DOI:10.11931/guihaia.gxzw201805020

# 红毛五加多糖对大鼠肝细胞免疫损伤的保护作用及其机制

李青青，吴疆，陈永*，郑碧荣，李儒月，王书贤，朱耀强

（潍坊医学院，山东 潍坊 261053）

**摘要**：红毛五加属于五加科植物，而五加科植物大多具有调节免疫力的双向调节作用，红毛五加多糖是从中药红毛五加中提取的单一组分，目前关于红毛五加多糖的抑炎作用还少有报道。该研究旨在探究红毛五加多糖 AHP-II 对 LPS 致的大鼠肝细胞免疫损伤的保护作用及其作用机制。本次实验分为空白组，模型组（LPS，40 μg•mL$^{-1}$），AHP-II 低中高剂量组（25,50,100 μg•mL$^{-1}$）五组。以 LPS（40 μg•mL$^{-1}$）来制备大鼠肝细胞免疫损伤模型，用 ELISA 方法检测细胞分泌 TNF-α 的水平及流式检测 ROS 的含量，来探究 AHP-II 不同剂量对炎症因子的抑制作用，进而用 western 方法检测 P-JNK 的蛋白水平来进一步探究 AHP-II 的抑制作用机制。结果表明：低中高剂量组的 AHP-II 均可使肝细胞损伤后的 TNF-α 含量下降。同时 AHP-II 中高剂量组均可使损伤后的肝细胞 ROS 的分泌量下降，且 AHP-II 高剂量组抑制 ROS 的作用最强。在加入 AHP-II 后，JNK2 蛋白的磷酸化水平呈剂量依赖性降低，AHP-II 高剂量组抑制作用最强。这说明红毛五加多糖 AHP-II 可以通过降低 P-JNK 的蛋白含量来抑制炎症因子 TNF-α 及 ROS 的水平来发挥免疫保护作用。

**关键词**：红毛五加多糖，脂多糖，肝损伤，JNK

**中图分类号**：R285　　　　**文献标识码**：A

# Protective effect of polysaccharide AHP-II on hepatocyte injury in rats and its mechanism

LI Qingqing, WU Jiang, CHEN Yong*, ZHENG Birong,
LI Ruyue, WANG Shuxian, ZHU Yaoqiang

(*Weifang Medical University*, Weifang 261053, Shangdong, China)

**Abstract**: *Acanthopanax giraldii* belongs to the Araliaceae plant, and most of the Araliaceae plants have a two-way regulation effect in regulating immunity. The *Acanthopanax giraldii* polysaccharide is a single component extracted from the traditional Chinese medicine *Acanthopanax giraldii*. The anti-inflammatory effect of polysaccharides has rarely been reported.This study aims to explore the protective effect and mechanism of polysaccharide AHP-II on LPS-induced hepatocyte injury in rats. This experiment was divided into five groups: blank group, model group (LPS, 40 μg•mL$^{-1}$), AHP-II low,Moderate,high-dose group (25, 50, 100 μg·mL$^{-1}$). LPS (40 μg·mL$^{-1}$) was used to prepare the rat hepatocyte immune injury model. The cytotoxic effect of AHP-II on hepatocytes was first examined by CCK-8 method to eliminate interference. The secreted level of TNF-α by the cells was measured by ELISA and the level of ROS was measured by flow cytometry to establish the hepatocyte immune injury model. Then the inhibitory effect of different doses of AHP-II on inflammatory factors was

**基金项目**：国家自然科学基金（81303198）[Supported by National Natural Science Foundation of China (81303198)]

**作者简介**：李青青（1996-），女，山东济宁人，硕士研究生，研究方向为天然多糖的结构与功能，(E-mail)869454721@qq.com。

***通信作者**：陈永，硕士，副教授，研究方向为天然多糖的结构与功能，(E-mail)wfyxy186126@163.com。

explored, and the level of JNK protein and its phosphorylation was detected by western method to further explore the inhibitory mechanism of AHP-II. The results showed that the experimental dose of AHP-II had no damage to cells by CCK-8 method, this indicates that the reduction of inflammatory factors secreted by cells treated by AHP-II is not due to its cytotoxic effect. AHP-II groups （25,50,100 μg•mL$^{-1}$）decreased the TNF-α content durig hepatocyte injury. At the same time,the high-dose AHP-II group can reduce the secretion of ROS durig hepatocytes injury, and the high-dose AHP-II group has the strongest effect in inhibiting ehe conrent of ROS. After the addition of AHP-II, the phosphorylation level of JNK2 protein decreased in a dose-dependent manner, and the AHP-II high-dose group had the strongest inhibitory effect. The polysaccharide AHP-II can play an immunoprotective role by reducing the protein content of P-JNK and inhibiting the levels of TNF-α and ROS. The results of this study provide a scientific basis for the hepatoprotective effect of *Acanthopanax giraldii*, and promote the further development and utilization of the resources of *Acanthopanax giraldii*.

**Key words**: *Acanthopanax giraldii* polysaccharide , lipopolysaccharide, liver injury, JNK

红毛五加为五加科多年生灌木，它的药用部位为密生刺毛的茎皮，称为红毛五加皮。五加科植物大多具有祛风湿，通关节，补肝肾，强筋骨的功效。有研究结果显示:刺五加水提物能显著增加小鼠单核一巨噬细胞的吞噬功能，并能显著提高小鼠迟发超敏反应的程度，此外显著增加了小鼠的脾脏和胸腺的脏器系数，提示刺五加能增强机体免疫防御能力，并且这种免疫增强作用与促进巨噬细胞活化有关（王瑞强等，2013）。此外还有研究发现当给小鼠腹腔注射刺五加提物后，可检测到刺五加水提物明显抑制了小鼠腹腔巨噬细胞在 LPS&IFN-γ 诱导刺激下产生的 NO、 ZYM 诱导刺激下产生的 $O_2^-$和 PMA 诱导刺激下产生的 $H_2O_2$ 的含量，结果提示刺五加水提物可能通过抑制活化巨噬细胞产生的炎症介质发挥其抗炎功效（林秋叶等，2007）。这些结果表明大多数由五加科提取的有效成分都有抑制炎症反应和促进免疫细胞活性的双重作用（Chien et al, 2015；孙永杰等，2012）。课题组前期从中药红毛五加中提取了一种单一组分红毛五加多糖 AHP-II，前期研究发现它具有促进免疫活性的作用，而现有的关于红毛五加多糖抗炎的研究却少有报道，为了进一步探究 AHP-II 对于肝损伤的作用，我们用 LPS 诱导大鼠肝细胞 BRL 损伤，模拟了人类免疫性肝损伤模型，用 AHP-II 刺激，来探究单一组分是否具有“保肝”的作用。

# 1 材料与方法

## 1.1 实验材料

RPMI1640(Gibco 公司)；胎牛血清(Gibco 公司)；青链霉素混合液（购自北京索莱宝科技有限公司）LPS（sigma）；TNF-α 检测盒（eBioscience）；活性氧检测试剂盒（Beyotime）；磷酸化兔抗鼠 JNK 抗体( Cell Signal Technoloy)；辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔的二抗(Cell Signal Technoloy)；化学发光试剂盒(Thermo)；红毛五加多糖 AHP-II 由课题组前期制得；BRL 大鼠肝细胞株购自中科院上海细胞研究所。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 细胞培养

大鼠肝细胞 BRL，用含有 10%的胎牛血清的 1640 培养基置于 37 ℃，5%$CO_2$ 培养箱中传代培养。隔天传代。随着实验目的的接种于培养板上。

### 1.2.2 AHP-II 细胞毒性检测

将大鼠肝细胞 BRL，以每孔 $10^3$ 个细胞的密度接种于 96 孔板内。实验分为（1）空白组（2）AHP-II 低剂量组（25 μg•mL$^{-1}$），（3）AHP-II 中剂量组（50 μg•mL$^{-1}$），（4）AHP-II 高剂量组（100 μg•mL$^{-1}$）。空白组添加等量的无血清 1640 培养基，各组分别按分组加好药物，放入 37 ℃，5%$CO_2$ 培养箱中孵育 24 h 后，用 CCK-8 检测 AHP-II 对细胞的增殖毒性。

### 1.2.3 ELISA 检测 TNF-α 的含量

将大鼠肝细胞 BRL，以每孔 $10^6$ 个细胞的密度接种于 6 孔板内。按照 1.2.2 的方法培养细胞，另增设 LPS 模型对照组（40 μg•$mL^{-1}$），各组分别按分组加好药物，放入 37 ℃，5%$CO_2$ 培养箱中孵育 24 h 后，收集上清，按照 ELISA 说明书检测上清中的 TNF-α 细胞因子的含量。

1.2.4 流式细胞术检测 ROS 的表达

将大鼠肝细胞 BRL，以每孔 $10^6$ 个细胞的密度接种于 6 孔板内。按照 1.2.3 的方法培养细胞 24 h 后，收集细胞，用流式细胞仪检测 ROS 的含量。

1.2.5 用 western blot 检测 JNK 磷酸化情况

按 1.2.3 方法处理细胞后，加药刺激 1 h 后提取总蛋白，检测 JNK 蛋白及其磷酸化蛋白的水平。

**1.3 数据分析**

采用 SPSS17.0 软件进行分析，所有数据结果 $\bar{x}\pm s$，多组间比较用 LSD-t 检验。

## 2 结果与分析

**2.1 不同浓度的 AHP-II 对肝细胞毒性的影响**

表 1 不同浓度的 AHP-II 对肝细胞毒性的影响

Table 1 Effects of different concentrations of AHP-II on hepatocyte toxicity( $\bar{x}\pm s$)

| 分组<br>Group | 吸光度<br>OD |
|---|---|
| 空白组 Control | 2.742+0.021 |
| 低剂量组 Low dose | 2.852+0.038 |
| 中剂量组 Moderate dose | 2.812+0.040 |
| 高剂量组 High dose | 2.822+0.063 |

为排除细胞数目对炎症因子的影响，该文用 CCK-8 检测了 AHP-II 不同工作浓度下对肝细胞的毒性作用，由结果可知，在低中高三个不同浓度下，AHP-II 对细胞增殖没有毒性作用。结果见表 1。

**2.2 不同浓度的 AHP-II 对肝损伤后分泌细胞因子的影响**

表 2 AHP-II 对肝损伤后分泌细胞因子的影响

Table 2 Effect of AHP-II on secretory cytokines after liver injury( $\bar{x}\pm s$)

| 分组<br>Group | TNF-α(pg/mL)<br>肿瘤坏死因子-α |
|---|---|
| 空白组 Control | 1.417+0.086 |
| 模型组 Model | 1.757+0.055$^{*}$ |
| 低剂量组 Low dose | 1.649+0.032$^{*▲}$ |
| 中剂量组 Moderate dose | 1.533+0.041$^{*▲}$ |
| 高剂量组 High dose | 1.486+0.057$^{▲}$ |

注：与空白组相比，*$P$<0.05。与 LPS 组相比，▲$P$<0.05

Note:Compared with the blank group, *$P$<0.05. Compared with the LPS group, ▲$P$<0.05

TNF-α 是引起急慢性肝损伤的重要因素之一，其具有细胞毒性作用，能够通过激活 T, B 淋巴细胞、增强 NK 细胞的杀伤能力，来间接或直接引起肝细胞的免疫损伤，还可诱导 TNF-α 本身，IL-8, IL-6 等细胞因子的大量分泌，介导肝细胞的功能受损，加重肝功能损伤。为

了构建免疫性肝损伤模型，我们用 LPS 诱导肝细胞，通过检测 LPS 刺激后肝细胞分泌 TNF-α 的含量，来验证肝损伤模型是否建立。由结果可知，与空白组相比，LPS 刺激后 TNF-α 的含量显著上升，$P$<0.05，由此可知 LPS（40 μ g•mL$^{-1}$）可以诱导肝损伤模型的建立。为了探究 AHP-II 对肝损伤的保护作用，我们比较了 AHP-II 低中高剂量组和 LPS 模型组，发现与 LPS 模型组相比，差异显著 $P$<0.05。不同剂量组的 AHP-II 均可使肝细胞损伤后的 TNF-α 含量下降。结果见表 2。

**2.3 不同浓度的 AHP-II 对肝损伤后分泌 ROS 的影响**

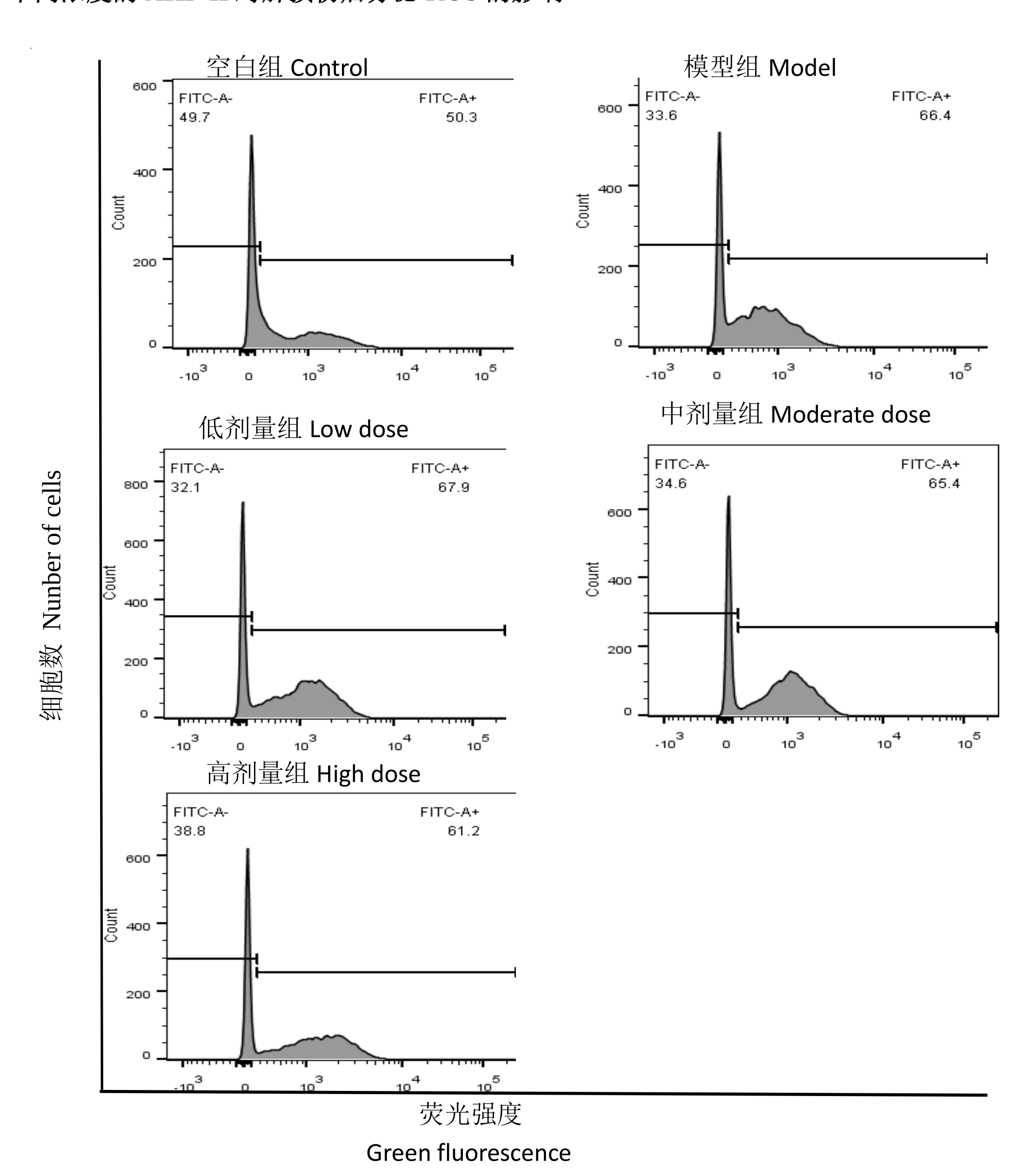



图 1 AHP-II 对肝损伤后分泌 ROS 的影响

Fig.1 AHP-II effect on ROS secretion after liver injury

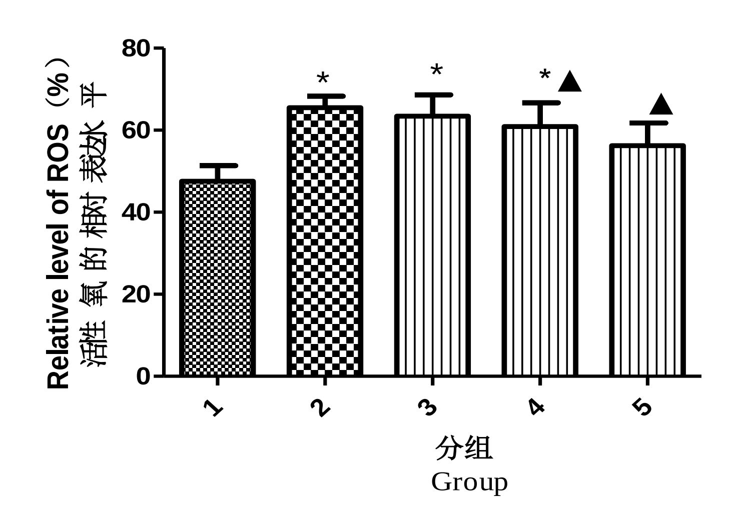



图 2 AHP-II 对肝损伤后分泌 ROS 的影响

Fig.2 Effect of ahp-ii on the secretion of ROS after liver injury

注：**1**. 空白组； **2**. 模型对照组；**3**. 低剂量组；**4**. 中剂量组；**5**. 高剂量组。与模型组相比，▲*P*<0.05。与空白组比，**P*<0.05。下同

Note: **1**. Control group; **2**. Model group; **3**. Low dose group; **4**. Moderate dose group; **5**. High dose group. Compared with the model group, ▲*P*<0.05. Compared with the blank group, **P*<0.05.The same blew.

肝细胞增殖、静息的相互转变一旦失控，会对肝脏正常发育、肝再生甚至肝癌发生等造成重大影响。目前的研究表明活性氧(ROS)可在细胞增殖过程中发挥双向调节作用，高水平 ROS 诱导细胞凋亡、坏死，低水平 ROS 诱导细胞增殖。流式实验结果显示，LPS 模型组与空白组相比，ROS 的含量显著升高（*P*<0.05），这与 ELISA 结果一致，均说明在 40 μg•mL$^{-1}$ 浓度下的 LPS 可以诱导大鼠肝细胞 BRL 生成炎症模型。由实验结果可知，其中 AHP-II（50 μg•mL$^{-1}$、100 μg•mL$^{-1}$）与模型组相比均与差异（*P*<0.05），均可使损伤后的肝细胞 ROS 的分泌量下降，且 AHP-II（100 μg•mL$^{-1}$）抑制 ROS 的作用最强。结果见图 1 和图 2。

**2.4 AHP-II 对 JNK 信号通路的影响**

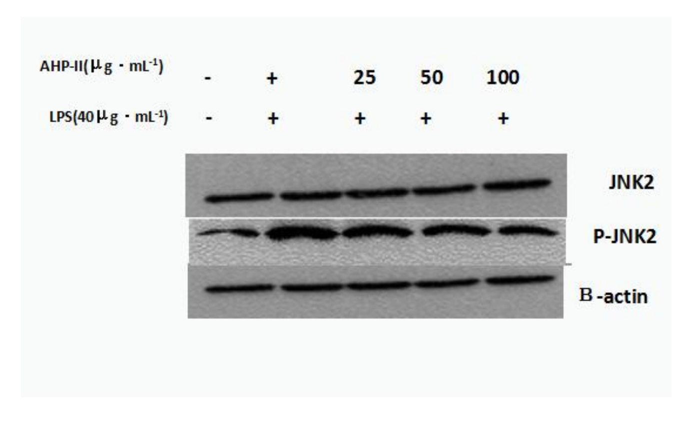



图 3 AHP-II 对 JNK 信号通路的影响

Fig.3 Effect of AHP-II on JNK signaling pathway

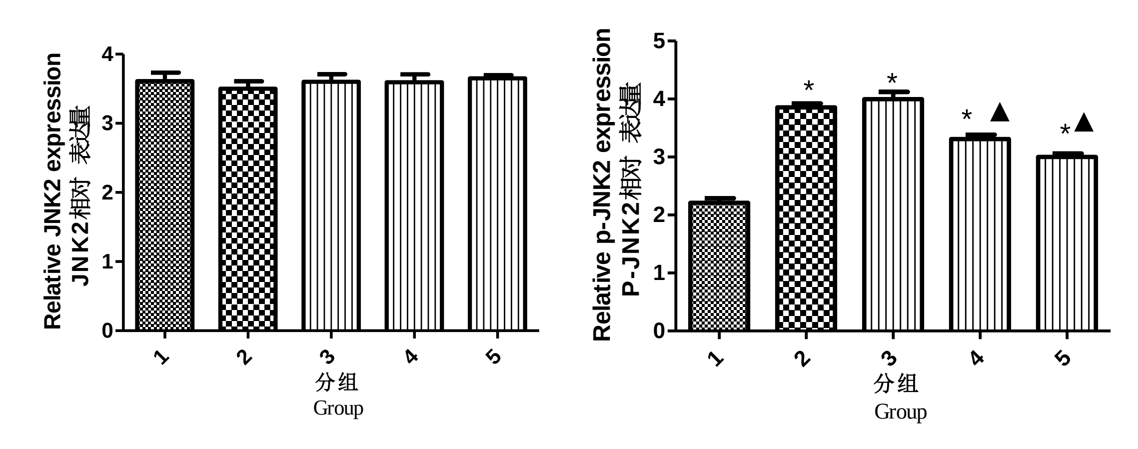



图 4 AHP-II 对 JNK 信号通路的影响

Fig. 4 Effect of AHP-II on secretory cytokines after liver injury

研究发现，JN K 信号通路与肝脏疾病关系密切，多种肝脏应激与损伤均存在 JNK 信号通路的激活。本次实验结果显示，LPS 组与空白组相比，有显著性差异（$P<0.05$），这说明 LPS 刺激后可使 JNK2 蛋白磷酸化来启动炎症反应。但当加入 AHP-II 后，JNK2 蛋白的磷酸化水平呈剂量依赖性降低，其中 AHP-II（50 、100 μg•mL$^{-1}$）与 LPS 模型组相比均与差异，且 AHP-II（100 μg•mL$^{-1}$）抑制作用最强。结果见图 3 和图 4。

## 3 讨论

爆发性肝衰竭是急性肝损伤的致命并发症，具有预后差死亡率高的特点。在发展中国家，病毒感染是导致爆发性肝衰竭最常见的原因，然而在西方国家，药物诱发的急性肝损伤已成为 FHF 的主要病因。涉及病原体诱导 FHF 的机制有两方面，首先病原体直接破坏肝细胞的结构和细胞器，触发细胞信号级联反应，导致细胞结构和功能的紊乱，然后诱导细胞凋亡和坏死。第二，受损的肝细胞释放内源性损伤相关分子模式（DAMPS），激活了自身免疫系统，刺激免疫细胞释放炎症因子，这又加重了肝细胞的损伤最终导致了爆发性肝衰竭。尽管在 FHF 的发病机制和诊断上已经取得了很大进展，目前却尚无有效的治疗方法。目前 FHF 可用的治疗方法是肝移植，但由于缺乏捐献者的肝脏而受到限制。因此越来越多的研究人员专注于寻找更有效的治疗 FHF 的药物（Sultan et al, 2017）。

目前已知的黄酮类（水飞蓟素，黄芩苷，槲皮素）(张强等，2014 ；张立海等，2012；翁书强等，2015)、萜类化合物（穿心莲内酯，白桦脂酸）(王雷，2016；徐立新等，2017)、生物碱（苦参碱）(高艳，2013)、多酚类（苦丁茶多酚）(赵欣等，2017)、多糖类（当归多糖，枸杞多糖）(宋之臻等，2016；章培军等，2011)，都具有保肝降酶的功效。为了开发现有中药的更大价值，我们提取了红毛五加多糖 AHP-II，同时结合大鼠肝细胞培养技术，用脂多糖（LPS)离体攻击的免疫手段，构建了在病理生理机制上和人类肝损伤接近的免疫性肝损伤体外模型，来探究红毛五加多糖对免疫性肝损伤的保护作用。

现有的关于五加科多糖的护肝作用大多集中在酒精性肝损伤和化学性肝损伤上，关于免疫性肝损伤的研究少有报道。卢芳发现刺五加多糖通过半胱氨酸和蛋氨酸代谢、胆汁的分泌、柠檬酸循环等代谢通路发挥肝损伤的保护作用（卢芳等，2016)，张正光发现细柱五加果实乙醇提取物通过降低血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转氨酶 CAST)的活性及肝组织中丙二醛(MDA)的含量，提高超氧化物歧化酶(SOD)的活性来发挥对化学性肝损伤的保护作用（张正光等，2011)，郝乘仪发现刺五加酸(AA) 通过升高丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶( AST)和肿瘤坏死因子( TNF-α)的活力、抑制小鼠肝细胞 DNA 的损伤来发挥对酒精性肝损伤的保护作用（郝乘仪等，2012)，鞠洋发现红毛五加多糖通过

降低过高的 NO 含量来发挥肝保护作用（鞠洋等，2005）。

许多研究显示，LPS 能够触发许多的病理学事件，包括炎症细胞因子的产生，例如 TNF-α。TNF-α 能够介导肝细胞的坏死，产生其他细胞因子，例如 IL-1B、IL-6，在肝损伤的发病机制中具有重要作用，而抑制 TNF-α 的表达能够减轻肝损伤。本次研究发现，在用 LPS 处理后，肝细胞内 TNF-α 水平显著上升，这表明 LPS 可以诱导肝损伤模型。同时，也发现，AHP-II 可以显著的降低炎症细胞因子的水平，使其恢复到正常水平，这一结果表明，AHP-II 可能通过其抗炎作用发挥保护肝脏的作用。ROS 参与肝硬化的发病机制，也是肝癌的危险因素，中、高浓度的 ROS 通过细胞氧化应激反应诱导细胞凋亡甚至导致其坏死。 本研究从肝损伤后 ROS 水平的变化关系入手，来探讨 AHP-II 对于肝损伤过程中的关键作用。本研究表明，LPS 刺激肝细胞后，细胞中 ROS 的水平显著上升，而用 AHP-II 处理后，ROS 的水平显著降低，这说明 AHP-II 可能通过其抗氧化作用发挥保护肝脏的作用。

MAPK 信号通路参与免疫应答，调节炎症反应，参与细胞生长、发育、凋亡等多种病理、生理过程。然而关于 LPS 诱导的免疫性肝损伤中 MAPK 信号通路的研究还少有报道（王凤华等，2017；田静等，2016；朱瑞芳等，2006）。JNK 的活化具有双向调节的作用，JNK 过度激活会诱导细胞凋亡通路，低表达则会满足细胞的正常分化增殖等生长活动。因此无论是肝细胞炎症还是死亡，JNK 在多种肝脏应激与损伤中起着重要的调节作用。为了进一步探究 AHP-II 对于 LPS 诱导的肝损伤的保护作用的机制，我们检测了 JNK 磷酸化的情况，结果发现，LPS 可通过促进 JNK 的蛋白磷酸化来诱导肝细胞损伤，而中高浓度的 AHP-II 可通过抑制 JNK 的蛋白的磷酸化来抑制炎症反应。综上红毛五加多糖 AHP-II 可以通过降低 JNK 的磷酸化蛋白含量来抑制炎症因子 TNF-α 及 ROS 的水平进而发挥免疫保护作用。

**参考文献：**


CHIEN TM, HSIEH PC, HUANG SS, et al, 2015. Acanthopanax trifoliatus inhibits lipopolysaccharide induced inflammatory response *in vitro* and *in vivo*[J]. Kaohsiung Hiroshima J Med Sci, 31, 499-509.

GAO Y, ZHENG P, YAN L, et al, 2013. Effects and preliminary mechanism of matrine on chronic alcoholic liver injury in rats [J]. Chin Psychopharm Bull, 29(7):1012-1016.[高艳，郑萍，闫琳，等, 2013. 苦参碱对大鼠慢性酒精性肝损伤的作用及初步机制研究[J]. 中国药理学通报, 29(7):1012-1016.]

HAO SY, BAI T, NAN JX, 2012. Effects of acanthopanhydric acid on alcoholic liver injury [J]. Chin J Exp Formulat, 18(24):198-200.[郝乘仪，白婷，南极星，等，2012. 刺五加酸对酒精性肝损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 18(24):198-200.]

JIN CL, LIN D, LEI Y, 2017. Hepatoprotective effects of kaemprerol-3-O-α-l-arabinopyranosyl-7-O-α-l-rhamnopyranoside on d-galactosamine and lipopolysaccharide caused hepatic failure in mice[J]. Molecules, 22: 1755.

JU Y, LUO Q, DANG YL, 2005. Protective effects of five plus polysaccharides with red hair on tetrachloride in rats with liver injury [J]. Phamacol Clin Pract Trad Chin Med, (3):25-26.[鞠洋，骆勤，党月兰, 2005. 红毛五加多糖对四氯化碳肝损伤大鼠的保护作用[J]. 中药药理与临床, (3):25-26.]

LIN QY, 2007. Anti-inflammation effect of acanthopanax senticosus hydrochloride extract and its mechanism [D]. Dalian:Dalian University Technology. [林秋叶, 2007. 刺五加水提物抗炎作用及其机制研究[D]. 大连：大连理工大学.]

LU F, YANG XD, ZHANG Y, et al, 2016. Based on metabonomics method acanthopanax polysaccharides on immunological liver injury in mice protection [J]. J Trad Chin Med New Drug Clin Pharmacol, 27 (6) : 823-829.[卢芳，杨晓丹，张颖，等，2016. 基于代谢组学方法探讨刺五加多糖对免疫性肝损伤小鼠的保护作用[J]．中药新药与临床药理, 27(6):823-829.]

SUN YJ, 2012. Extraction of total flavonoids from acanthopanax senticosus stems and leaves and their antioxidant effects [D]. Changchun: Jilin Agriculture University. [孙永杰，2012. 刺五加茎叶中总黄酮的提取及其抗氧化

功效研究[D]. 长春：吉林农业大学. ]

SULTAN M, BEN-ARI Z, MASOUD R, et al, 2017. Interleukin-1α and Interleukin-1β play a central role in the pathogenesis of fulminant hepatic failure in mice[J]. PLoS ONE, 12(9) : e0184084.

SONG ZZ, 2016. Study on target action of angelica polysaccharide liver and mechanism of protecting acute liver injury [D]. Wuhan: Huazhong University Science Technology.[宋之臻, 2016. 当归多糖肝靶向作用及保护急性肝损伤机理的研究[D]. 武汉：华中科技大学.]

WANG RQ, CHANG XQ, WEN ZY, 2013. Anti-acute inflammation and immune-enhancing effects of acanthopanax senticosus hydrochloride extract [J]. Tianjin Trad Chin Med, 30 (2):109-111.[王瑞强，常晓强，温占勇, 2013. 刺五加水提物的抗急性炎症及免疫增强作用[J]. 天津中医药, 30(2):109-111.]

TIAN J, JIN QF, LI ZY, etal, 2016. Effects of compound yinbai granule on MAPK signaling pathway in rats with acute liver injury caused by carbon tetrachloride [J]. J Chin Med, 34(1):111-113.[田静，金巧菲，李兆翌,等, 2016. 复方茵柏颗粒对四氯化碳致急性肝损伤大鼠 MAPK 信号通路的影响[J]. 中华中医药学刊, 34(1):111-113.]

WENG SQ, YAO QY, LI X, et al, 2015. Protective effects of quercetin on acute liver injury induced by edamame A in mice [J]. J Gastroenterol Hepatol , (1) :40-44.[翁书强，姚群燕，李希，等, 2015. 槲皮素对刀豆蛋白 A 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, (1) :40-44.]

WANG L, 2016. Protective effect and mechanism of andrographolide on anit-induced liver injury in rats [D]. Dalian: Dalian Medicine University.[王雷, 2016. 穿心莲内酯对 ANIT 诱导的大鼠肝损伤的保护作用及其机制研究[D]. 大连：大连医科大学.]

WANG FH, HAN JC, LI DF, et al. 2017. Dendrobium holoshan extract can reduce alcoholic liver injury in mice by mediating NF- B/p65 and p38 MAPK [J]. Res Dev Nat Prod , 29(4): 569-574.[王凤华，韩吉春，李德芳，等, 2017. 霍山石斛水提取物通过介导 NF-κ B/p65 和 p38 MAPK 减轻小鼠酒精性肝损伤[J]. 天然产物研究与开发 , 29(4): 569-574.]

XU LX, YAN LJ, 2017. Protective effect and mechanism of betulinic acid on acute liver injury induced by $CCl_4$ in mice [J]. J Nanjing Univ Trad Chin Med , 33(6):618-622.[徐立新，严丽军，2017. 白桦脂酸对 $CCl_4$ 诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及机制研究[J]. 南京中医药大学学报, 33(6):618-622.]

ZHANG Q, ZHANG YT, LI SM, 2014. Research progress of baicalin protecting liver and protecting liver [J]. Strair Pharmacol, 26 (1) :8-10.[张强，张燕堂，李素梅，2014. 黄芩苷保肝护肝作用的研究进展[J]. 海峡药学, 26 (1) :8-10.]

ZHANG LH, CI H, 2012. Pharmacological effect and Clin application of silymarin on liver protection [J]. Capital Med , (8) :47-48.[张立海，慈慧, 2012. 水飞蓟素保肝的药理作用及临床应用[J]. 首都医药, (8) :47-48.]

ZHAO X, LI GJ, HU YY, et al, 2017. Study on the improvement effect and mechanism of kuding tea polyphenol extract on the liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Food Ind Technol, 39(4):289-295.[赵欣，李贵节，胡园园，等，2017. 苦丁茶多酚提取物对四氯化碳诱导小鼠肝损伤的改善作用及机制研究[J]. 食品工业科技, 39(4):289-295.]

ZHANG PJ, XING XY, LIU BY, et al, 2011. Study on the protective effect of goji barbarum polysaccharide on experimental liver injury [J]. Chin Med Clin Pract, 11(11):1286-1287.[章培军，邢雁霞，刘斌钰，等, 2011. 枸杞多糖对实验性肝损伤保护作用的研究[J]. 中国药物与临床, 11(11):1286-1287.]

ZHANG ZG, QIAN SH, HUANG HC, 2011 . Protective effects of fruit extracts from piniculus chinensis on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Ginseng Res, 23(3):11-14.[张正光，钱士辉，黄厚才 , 2011. 细柱五加果实提取物对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 人参研究, 23(3):11-14.]

ZHU RF, LENG S, MA ZF, et al, 2006. Protective effect of p38 MAPK inhibitor on hepatic injury in sepsis rats [J]. J Clin Exp Med, (7):855-856.[朱瑞芳，乐胜，马中富，等, 2006. P38 MAPK 抑制剂对脓毒症大鼠肝损伤的保护作用[J]. 临床和实验医学杂志, (7):855-856.]